

Scientific excellence • Industry applicability • Strategic networking • Global influence



## FIELD GUIDELINES FOR THE ASSESSMENT AND MANAGEMENT OF AFLATOXINS IN DAIRY PRODUCTS ACROSS THE SUPPLY CHAIN

IDF Factsheet – June 2016

# WYTYCZNE DO SZACOWANIA I KONTROLI NAD AFLATOKSYNAMI W TERENIE W ŁAŃCUCHU DOSTAW PRZETWORÓW MLECZARSKICH

Broszura informacyjna IDF – czerwiec 2016

*Uwaga krajowa: tłumaczenie na język polski zostało sfinansowane ze środków FUNDUSZU PROMOCJI MLEKA*

*Celem tego dokumentu jest poinformowanie o aktualnych praktykach kontroli mykotoksyn w łańcuchu dostaw mleka. Pomimo różnych poziomów kontroli dla aflatoksyn, stosowanych w świecie, aflatoksyny są generalnie uważane za krytyczne zanieczyszczenie i dobry wskaźnik kontroli pasz w łańcuchu dostaw żywności.*



Mykotoksyny są naturalnymi toksynami wytwarzanymi jako produkty wtórne podczas rozwoju pleśni w zbożach, kiszonkach i paszach. Rozwój pleśni i produkcja mykotoksyn jest stymulowany zwiększoną wilgotnością i temperaturą. Plony poddane stresom z powodu suszy oraz uszkodzone przez insekty są bardziej wrażliwe na zakażenie pleśnią i jej rozwój podczas zbioru, suszenia i magazynowania. Wysoka wilgotność, deszcz i mokra pogoda podczas zbiorów mogą uniemożliwić szybkie i właściwe suszenie ziarna/kiszonki, wspierając tym samym wzrost pleśni. Ryzyko związane z mykotoksynami w paszy dla zwierząt może być zredukowane do akceptowalnego poziomu, gdy są uwzględnione właściwe zdrowe plony i zewnętrzne czynniki takie jak wilgotność i temperatura podczas wzrostu, zbioru i magazynowania (3).

Kiedy zwierzęta mleczne konsumują pasze zanieczyszczone mykotoksynami mogą się pojawić różne negatywne skutki dla zdrowia zwierząt i ludzi (4,5,6). Aflatoksyny, głównie aflatoksyna B1 (AFB1), wytwarzana we wrażliwych paszach i dodatkach do pasz, jak kukurydza, pszenica, orzeszki ziemne, nasiona bawełny, słonecznika itd. są najbardziej groźne, gdyż oprócz tego że są toksyczne, mogą powodować raka. Aflatoksyny w paszach są jedynymi mykotoksynami, które są aktualnie rozważane w kontekście ich możliwego przenoszenia do mleka i bezpieczeństwa przetworów mlecznych. Obecnie uznaje się, że inne mykotoksyny w paszach dla bydła są albo detoksykowane przez mikroorganizmy w żwaczu albo w nieznacznych ilościach są przenoszone do mleka (7). Jednakże inne mykotoksyny, pomimo że nie przechodzą do mleka, mogą oddziaływać niekorzystnie na zdrowie zwierząt i wydatek mleka (8).

Kiedy zakażone pasze są trawione przez zwierzęta mleczne, AFB1 przenika do ich krwioobiegu, gdzie w wątrobie toksyna AFB1 zostaje przekształcona do aflatoksyny M1 (AFM1), która może przechodzić do mleka. Średnio przenoszone jest do mleka 2,5% AFB1, przy wahaniach od 1 do 6% (8,9). AFM1 ma podobną toksyczność do AFB1, ale jej kancerogenność jest około 10-cio krotnie niższa (10). Zanieczyszczenie aflatoksyną pochodzenia paszowego jest praktycznie niemożliwe do wyeliminowania, tak więc systemy zarządzania są nakierowane na zapobieganiu, kontroli surowca i wczesnym ostrzeganiu wraz z krokami zapobiegawczo korekcyjnymi.

AFM1 pozostaje w mleku około 12-24 godziny po wniknięciu i na szczęście zostaje wyeliminowana szybko ze stada w ciągu 3-5 dni od usunięcia lub po obróbce zakażonej paszy (8,9).

KOMISJA CODEX ALIMENTARIUS ustanowiła maksymalny poziom, *adekwatny poziom ochrony* (ALOP), dla AFM1 w mleku w wysokości 500 nanogramów w litrze (ng/l), który jest powszechnie wyrażany jako 500 części na trylion (ppt) (11). Regulowane poziomy (MRLs i ADIs) mogą różnić się w różnych prawodawstwach/krajach i dla różnych typów produktów, a cele kontroli mogą w dużej mierze bazować na tych poziomach i typach produktów. W przypadku aflatoksyn wielu przetwórców mleczarskich w świecie wybiera próby operowania poniżej najniższych możliwych poziomów aflatoksyn w łańcuchu mleczarskim, tj. na niższych poziomach niż limity bezpieczeństwa żywności ustanowione przez Codex. Tak niskie możliwe poziomy są znane jako *Tak Niskie Jak Jest To W Sposób Uzasadniony Osiągalne (ALARA)*.

Zgodnie z zasadami ALARA, IDF proponuje aby maksymalny limit dla AFM1 w mleku był ustalony na 50ng/L (ppt) (12). Europejski maksymalny poziom (ML) dla AFM1 bazuje na tym poziomie ALARA 50 ng/L.

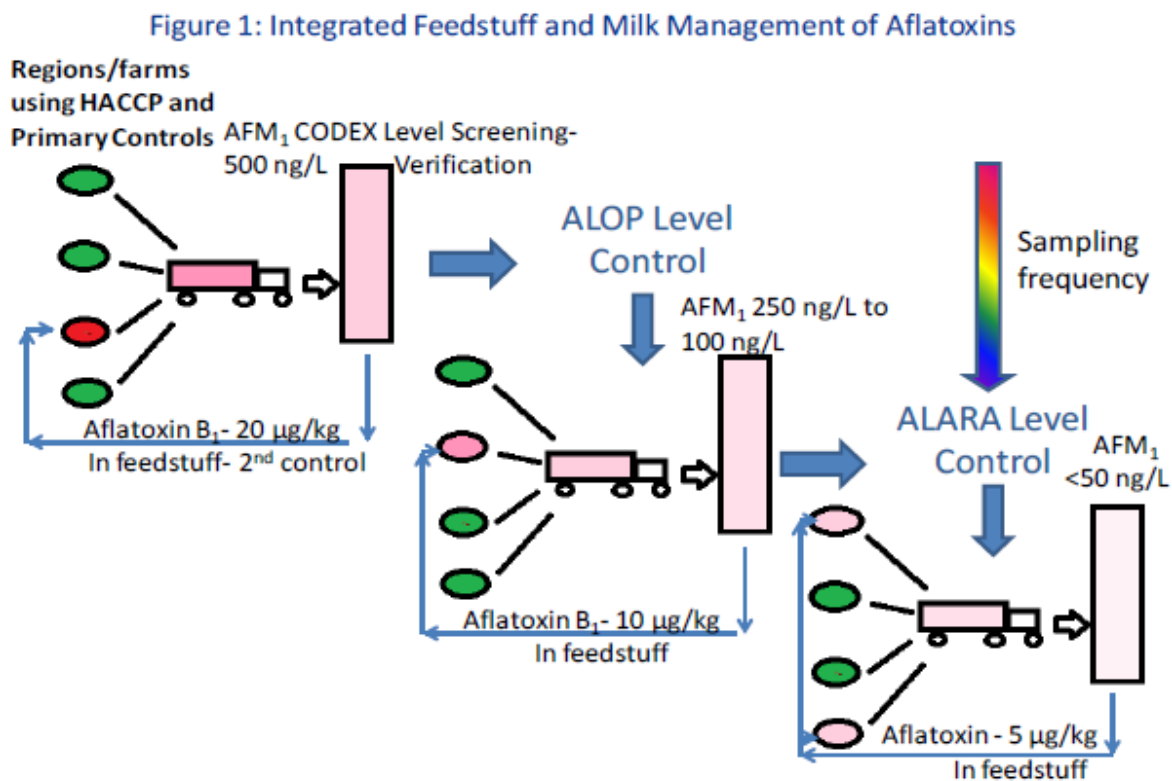
Tak jak w przypadku innej żywności, efektywne zarządzanie systemami bezpieczeństwa przetworów mlecznych powinno włączać dobre praktyki produkcyjne oraz przyjęcie ciągłej kontroli sanitarnej w zapobiegającym i interwencyjnym podejściu Analizy Zagrożeń i Krytycznych Punktów Kontroli (HACCP). Powinny one być wdrożone w całym łańcuchu dostaw od dostawców zagranicznych, do źródeł lokalnych oraz na całej drodze do pyska krowiego. Jednymi z największych obszarów zagrożeń są: magazynowanie na farmie oraz praktyki podstawowej higieny skarmiania/fitosanitarne (8). Kontrola AFM1 w mleku jest najbardziej efektywna, gdy jest nakierowana na źródło. Dlatego kontrola jest na ogół nastawiona na ocenę i sprawdzanie mieszalni pasz i magazynów producentów pasz oraz jakości systemów i kontroli zapobiegania mykotoksynom w kupowanej i magazynowanej paszy. Jak to wcześniej wspomniano, jest to ważne w stopniu krytycznym dla aflatoksyn, z powodu ich wysokiej trwałości od momentu ich wytworzenia.



Te praktyki i protokoły powinny włączać zawartość wody, temperaturę i kontrole okresowe, aby zminimalizować ryzyko związane z wytworzeniem AFB1 w ziarnach zbóż i składnikach pasz, od zbioru do spasanania. Jest to szczególnie ważne gdy plony pasz i składniki pochodzą ze stref subtropikalnych lub klimatu ciepłego, co może stymulować zakażenie pleśnią i jej rozwój.

Niektórych z najbardziej krytycznych surowców byłoby lepiej unikać lub ograniczać (np. wytloki kokosowe, wytloki z nasion bawełny oraz ryżowa mąka/łupiny). Ponadto ważne jest wdrażanie różnych analitycznych kontroli na poziomie pasz, włącznie z okresowymi szybkimi skринingowymi kontrolami na farmie zbóż i składników pasz na obecność AFB1 oraz usuwanie źródła kiedy to konieczne (3,8,9,12,13). Ponadto gdy źródła zbóż lub warunki pogodowe wskazują na podwyższone ryzyko dla pasz oraz przy braku regionalnych kontroli, mleko surowe może być badane na AFM1 przed jego przyjęciem do przerobu w zakładzie, celem dalszej weryfikacji jego bezpieczeństwa. Taki zintegrowany system zarządzania jest pokazany na rys. 1, a następnie omówiony w kolejnych akapitach.


Rys 1. Zintegrowane Zarządzanie Aflatoksynami W Paszach i Mleku



*Zintegrowane Kontrole Aflatoksyn z Pasz w Produkcji Mleka. Czerwony kolor (silnie skażone), zielony (nieskażone) i różowy (nieznacznie skażone lub rozcieńczone nieskażonym). Regiony produkcji na farmach (owale), napełnione cysterny wiozące mleko do tankosilosów mleczarskich (prostokąty).*

Pierwsza, podstawowa kontrola mykotoksyn, a w tym przypadku aflatoksyn, odbywa się przy produkcji i magazynowaniu pasz, zgodnie z dobrymi praktykami w rolnictwie i HACCP. W przypadku aflatoksyn, badanie mleka może być przeprowadzone jako oszacowanie i weryfikacja kontroli pierwotnej paszy/składników. Gdy wykryta jest aflatoksyna M1 (AFM1) w mleku na którymkolwiek poziomie kontroli, próbki od producenta mogą być użyte do zidentyfikowania źródła zanieczyszczenia. Pasze mogą wtedy być przebadane na obecność aflatoksyny B1 w celu szybkiego skorygowania i usunięcia skażenia. Częstotliwość badania skringowego mleka może być zmniejszona, gdy ryzyko się obniża i są utrzymywane poziomy kontrolne ALOP (*adekwatny poziom ochrony*) oraz ALARA (*Tak Niskie Jak Jest To W Sposób Uzasadniony Osiągalne*).

Pierwsze kontrole na poziomie pasz są przeprowadzane dla odpowiedniego przygotowania suszonych pasz i magazynowania ich przy odpowiednim wietrzeniu. Wysuszenie paszy (w % wody w masie) jest najważniejsze w kontroli pleśni i może być badane wieloma praktycznymi metodami, jak odwadnianie w trakcie suszenia, suszenie dielektryczne, w bliskiej podczerwieni, w polu elektrycznym i metodą chemiczną Karla Fishera. Jednakże, najlepszym wskaźnikiem efektywnej kontroli jest aktywność wodna (aw) ziarna zboża lub paszy, która odnosi się do wody która jest efektywnie dostępna w produkcie dla wspierania rozwoju pleśni. Dla wszystkich składników paszy, a zwłaszcza gdy wprowadzane są nowe składniki pasz do mieszanki paszowej, systemy kontroli dotyczące zbioru, warunków magazynowania tych składników, powinny być ściśle i konsekwentnie dokumentowane, przeważnie poniżej 0,65 (14). Ponadto, pewne pasze jak kopra, nasiona bawełny, orzeszki ziemne i łuski orzechów, są historycznie udokumentowane jako źródło zakażeń mykotoksynami w paszach i tym samym prezentują rosnące ryzyko zanieczyszczenia. W przypadkach gdy systemy kontrolne dla tych składników nie są znane lub gdy kiedykolwiek składniki paszy o wyższym ryzyku zostały włączone w mieszanki paszowe, rozważnym jest użycie metod skringowych do zbadania próbki lub składnika przed ich użyciem.



Gdy pierwsze kontrole dla specyficznego procesu są efektywne w długo okresowych seriach badań, częstotliwość pobierania próbek mieszanek paszowych lub składników dla weryfikacji kontroli mykotoksyn może być zmniejszona zgodnie ze złagodzonym planem pobierania prób (15,16); natomiast gdy pierwsze kontrole nakładają się z uszkodzeniami upraw, zdarzeniami pogodowymi lub klimatycznymi lub gdy wykrywane są próbki pozytywne, częstotliwość pobierania prób powinna wzrosnąć do normalnych lub nawet podwyższonych poziomów. Jeśli badanie pasz pokazuje zanieczyszczenie, dodatkowa kontrola bezpieczeństwa polega na badaniu paszy i mieszanki, obróbce lub usunięciu źródła - zboża lub składnika – z dostaw żywności, oraz na jednoczesnym laboratoryjnym badaniu potwierdzającym, kiedykolwiek jest to możliwe. Niektóre uregulowania prawne, np. w UE, nie zezwalają na mieszanie pasz w celu redukcji poziomów AFB1 (17). W takich przypadkach mogą być stosowane dopuszczalne pokarmowe czynniki wiążące dla związania lub degradacji mykotoksyn w żwaczu/jelitach zwierzęcia, w celu umożliwienia konsumpcji zanieczyszczonej paszy przy jednoczesnym zmniejszeniu ryzyka AFM1 w mleku (8).

Szybkie, stosowane w terenie testy skringowe, są dostępne w handlu (8). Na przykład U.S. Department of Agriculture Grain Inspection, Packers oraz Stockyards Administration publikują metody, które są zgodne z ich specyfikacjami bazującymi na chromatografii cieczowej (18). Poziomy testów skringowych, które powinny dokonywać selekcji składników lub pasz, mogą się różnić w zależności od regionów oraz różnych celów uregulowań prawnych, takich jak ALOP i ALARA w odniesieniu do dostaw mleka. Na przykład amerykańska i brazylijska kontrola kukurydzy i składników nakierowana jest na zawartość aflatoksyny B1 na poziomie 10-20 mikrogramów na kilogram ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), zazwyczaj wyrażanej w częściach na miliard (ppb) oraz realizacji kontroli ALOP, podczas gdy unijne kontrole artykułów paszowych na poziom całkowitej ilości aflatoksyn 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  oraz realizację kontroli ALARA (19).

Niektóre odpowiednie protokoły pobierania próbek pasz są wyspecyfikowane przez USDA-GIPSA, ISO, EC (18,19,20). Należy podkreślić, że kontrole pasz lub składników, między innymi wtórne kontrole, nie powinny być jedynym zabezpieczeniem dostaw mleka.

Podstawowym priorytetem powinny być raczej pierwsze praktyki bezpieczeństwa żywności, takie jak dobre praktyki rolnicze, dobre praktyki produkcyjne oraz wdrożenie HACCP. Jest tak dlatego, że wzrost pleśni i produkcja toksyn w składnikach pasz jest niejednorodny, koncentrując się w punktach zapalnych, oraz epizodyczny i może stanowić wyzwanie dla najlepszych dostępnych planów pobierania próbek pod względem lokalizacji pobierania prób i wielkości prób.

Spośród innych wtórnych kontroli aflatoksyn, przyswajane przez krowy ilości pasz są dużo większe niż wielkości próbek pasz; dlatego też krowa powinna być postrzegana jako większy próbobiorca pasz oraz jako produkujący mleko ekstraktor/detektor zanieczyszczonych pasz. Zanieczyszczenie AFM1 w mleku jest homogenne w odróżnieniu od niejednorodnego zanieczyszczenia AFM1 w paszach. Dlatego mleczarnie mogą wybrać do przeglądu mleko jako weryfikację bezpiecznych dostaw pasz i poprzez to uczestniczyć w szybkim wykrywaniu źródeł zanieczyszczenia mykotoksynami. To dobrowolne pobieranie prób i badanie jest także użyteczne dla oceny ryzyka zanieczyszczenia aflatoksynami pasz na farmach i w regionach geograficznych, zwłaszcza gdy przez cały czas zbierane są solidne rezultaty badań.

Badania skriningowe mogą być wybrane bazując na publikacjach o ich stosowaniu w terenie, poziomach detekcji i parametrach precyzji (8, 18, 21, 22, 23). Oprócz użycia mleka surowego do weryfikacji pierwszych kontroli, zwiększone badania mleka surowego mogłyby być ostateczną weryfikacją zgodności z ustanowionym limitem oraz bezpieczeństwem kolejnych wyprodukowanych partii produktu w czasie gdy mają miejsce wtórne kontrole przeglądowe.

Kontrola nad paszami w odniesieniu do 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  AFB1 pozwoli na produkcję mleka spełniającego odpowiedni poziom protekcji (ALOP) lub poziom CODEX 500 ng/L. Jeśli używane są metody skriningowe badania mleka bardziej na bazie ich limitu detekcji niż na adekwatnym poziomie toksyn, mogą być identyfikowane pasze, farmy i regiony mające udział w wyjściowych poziomach aflatoksyn. Usunięcie pasz o poziomach niższych niż 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , np. 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , może obniżyć wyjściowe poziomy toksyn w dostawach mleka. Gdy pasze są kontrolowane wobec poziomu 2 do 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  AFB1, poziomy AFM1 w mleku są zazwyczaj niższe niż 50 ng/L lub tak niskie jak jest to sensownie osiągalne (ALARA).





Systemy kontroli mykotoksyn przeprowadzane na miejscu dla zapewnienia bezpieczeństwa mleka, przetworów mlecznych i pasz zwierząt mlecznych pozwalają na badania skringowe na poziomach niższych niż poziomy interwencyjne, na przykład na poziomie limitu detekcji skringowych metod badań mleka i pasz.

Tak wysoka czułość badania może zapewnić weryfikację efektywności pierwszych kontroli lub wczesne ostrzeżenie dla regionów produkcji pasz i mleka, przyczyniając się do podnoszenia poziomów toksyn, jeszcze nie wywołujących konieczności reakcji. Takie wczesne ostrzeżenie może pozwolić skringom pasz i składników pasz, oprócz innych pierwszych korekt/poprawek pasz, na dostarczenie najbardziej odpowiedniej kontroli mykotoksyn skutkującej obniżeniem ryzyka zagrożenia zdrowia publicznego oraz zmniejszeniem strat mlecznych przetworów, mleka lub pasz.

## Literatura

- 1) Lillehoj, E.B.; Fennel, D.I.; Hesseltine, C.W. *Aspergillus Flavus Infection and Aflatoxin Production In Mixtures of High-Moisture and Dry Maize*. *J. stored Prod. Res.* 1976, 12, 11-18.
- 2) Barug, D., D. Bhatnagar, H.P. van Egmond, J.W. van der Kamp, W.A. van Osenbruggen and A. Visconti (Eds.). 2006. *The mycotoxin factbook. Food and feed topics*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- 3) CODEX Alimentarius Commission Thirty sixth Session, Rome, Italy, 1-5 July 2013 Aliform 03/32 Appendix !!
- 4) Anonymous. *Chemical Nature and Biological Effects of the Aflatoxins*. *Bact. Rev.*, 1966, 30(2), 460-470.
- 5) Asao, T.; Buchi, G.; Abdel-Kader, M.M.; Chang, S.B.; Wick, E.L.; Wogan, G.N. *Aflatoxins B and G*. *J. Amer. Chem. Soc.* 1963, 85, 1706-1707.
- 6) Wong, J.J.; Hsieh, D.P.H. *Mutagenicity of aflatoxins related to their metabolism and carcinogenic potential*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1976, 73(7), 2241-2244.
- 7) Fink-Gremmels J. *Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review*. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2008. Feb;25(2):172-80.
- 8) Driehuis, F.; Te Giffel, M.C.; van Egmond, H.P.; Fremy, J.M.; Bluthgen, A. *Feed –Associated Mycotoxins in the Dairy Chain: Occurrence and Control*. *Bulletin of the International Dairy Federation* 444/2010. 2010, 1-25.
- 9) Magen, N., Olsen, M. et al *Mycotoxins in Food: Detection and Control, Cpt 12, Controlling Mycotoxins in Animal Feed Pg 274-275*. 2004. Woodhead Publishing Ltd, Abington Hall, Abington, Cambridge CB1 6AH, England,
- 10) Stoloff, L. *Aflatoxin M1 in Perspective*. *J. Food Prot.* 1980. 43(3), 226-230.
- 11) European Union. *Commission Regulation (EU) no. 165/2010 of 26 February 2010 amending Regulation (EC) no. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins*. *Off. J. Eur. Union* 2010, L50, 8-12. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:050:0008:0012:EN:PDF> Accessed Jan, 2014.
- 12) Codex Alimentarius Commission. 1997. *Code of practice for the reduction of aflatoxin B1 in raw materials and supplemental feedstuffs for milk and milk producing animals*. CAC/RCP 45-1997. Food and Agriculture Organization, Rome.
- 13) Codex Alimentarius Commission. 2003. *Code of Practice for the prevention and reduction of mycotoxin contamination in cereals, including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and tricothecenes*. CAC/RCP 51-2003. Food and Agriculture Organization, Rome.

- 14) Abdullah, N.; Nawawi, A.; Othman, I. Fungal Spoilage of Starch-based Foods in Relation to its Water Activity (aw). 2000. *Journal of Stored Products Research* Vol. 36, p.47-54
- 15) CODEX Alimentarius. *General Guidelines on Sampling*. CAC/GL 50-2004. 2004
- 16) US Department of Defense. MIL-STD 105E. *Sampling Procedures and Tables for Inspection by Attributes*. May 10, 1989. [https://archive.org/stream/MIL-STD-105E\\_1/MIL-STD-105E#page/n0/mode/1up](https://archive.org/stream/MIL-STD-105E_1/MIL-STD-105E#page/n0/mode/1up) Accessed July 2014
- 17) Commission regulation (EU) No 1881/December 2006 – Article 3 <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20100701:EN:PDF> Last accessed July 2015
- 18) US Dept. of Agriculture. *Aflatoxin Handbook*. USDA, Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration, Federal Grain Inspection Service, Washington, DC. 2002, 1-9. [http://www.gipsa.usda.gov/publications/fgis/handbooks/afl\\_insphb.html](http://www.gipsa.usda.gov/publications/fgis/handbooks/afl_insphb.html) Accessed Jan, 2014.
- 19) European Union. Directive 2002/32/EC undesirable substances in animal feed [http://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:aca28b8c-bf9d-444f-b470-268f71df28fb.0004.02/DOC\\_1&format=PDF](http://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:aca28b8c-bf9d-444f-b470-268f71df28fb.0004.02/DOC_1&format=PDF) Last accessed July 2015
- 20) European Commission. No 519/2014 of 16 May 2014 amending Regulation (EC) No 401/2006 as regards methods of sampling of large lots, spices and food supplements, performance criteria for T-2, HT-2 toxin and citrinin and screening methods of analysis. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32014R0519&from=EN> Accessed May 2016.
- 21) International Dairy Federation (IDF) / International Organization for Standardization (ISO). ISO 14501 | IDF 171:2007 - Milk and milk powder. Determination of aflatoxin M1 content – Cleanup by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography
- 22) Salter, R.; Douglas, D.; Tess, M.; Markovsky, B.; Saul, S.J. Interlaboratory study of the Charm ROSA Safe Level Aflatoxin M1 Quantitative lateral flow test for raw bovine milk. *J. AOAC*. 2006, 89, 1327-1334.
- 23) Reybroeck W.; Ooghe S.; Saul, S.J.; Salter, R.S. Validation of a lateral flow test (MRLAFMQ) for the detection of aflatoxin M1 at 50 ng l<sup>-1</sup> in raw commingled milk, 2014, *Food Additives & Contaminants: Part A* Vol. 31, No. 12, 2080–2089, <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2014.979888> .